UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1948 N° 589

L'Examen Bactériologique des Laits Industriels

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement en Juin 1948

PAR

CHRISTIANE DEMAISON-CAPPELINI

DIPLOMÉE D'HYGIÈNE

DIPLOMÉE DE SÉROLOGIE

Membres du Jury

MM. ANDRIEU.. *Président*

SOREL..... *Assesseurs*

LAPORTE .

LASSERRE .

BAZEX..... *Suppléant*

TOULOUSE

IMPRIMERIE P. JULIA, 2, RUE TEMPONIÈRES

1948

DEMAISON-CAPPELINI (Christiane)
L'examen bactériologique des laits industriels.
Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1948, in-8° (53 pages).
(*Thèse Médecine, Toulouse*, n° 58.)

DEMAISON-CAPPELINI (Christiane)
L'examen bactériologique des laits industriels.
Toulouse. Imprimerie P JULIA.
1948, in-8° (53 pages).
(*Thèse Médecine, Toulouse*, n° 58.)

DEMAISON-CAPPELINI (Christiane)
L'examen bactériologique des Laits industriels.
Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1948, in-8° (53 pages).
(*Thèse Médecine, Toulouse*, n° 58.)

DEMAISON-CAPPELINI (Christiane)
L'examen bactériologique des Laits industriels.
Toulouse. Imprimerie P. JULIA.
1948, in-8° (53 pages).
(*Thèse Médecine, Toulouse*, n° 58.)

L'Examen Bactériologique des Laits Industriels

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1948 N° 58

L'Examen Bactériologique des Laits Industriels

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement en Juin 1948

PAR

CHRISTIANE DEMAISON-CAPPELINI

DIPLOMÉE D'HYGIÈNE

DIPLOMÉE DE SÉROLOGIE

Membres du Jury

MM. ANDRIEU.. *Président*

SOREL..... *Assesseurs*

LAPORTE . *Assesseurs*

LASSERRE . *Assesseurs*

BAZEX..... *Suppléant*

TOULOUSE

IMPRIMERIE P. JULIA, 2, RUE TEMPONIÈRES

—

1948

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN	MM.	CALVET.
ASSESSEUR		LEFEBVRE.
Doyens honoraires		BARDIER, GORSE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DALOUS	MM. RISPAL	MM. MOOG	MM. MAURIN
	LAFFORGUE	MERIEL	RIBAUT.
	ARGAUD	CAUBET	SERR.

PROFESSEURS

Clinique de neurologie et de psychiatrie	MM.	RISER.
Clinique médicale		TAPIE (J.), ROQUES.
Clinique obstétricale		GARIPUY.
Physiologie		SOULA.
Clinique chirurgicale et du Cancer		DUCUING.
Physique biologique et médicale		BUGNARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		NANTA.
Chimie et Toxicologie		BRUSTIER.
Pathologie générale et médecine expérimentale		SENDRAIL.
Clinique chirurgicale et gynécologie		LEFEBVRE.
Anatomie		CLERMONT, VALLOIS.
Histoire naturelle		DELAS.
Clinique médicale infantile et puériculture		SOREL.
Pharmacie		CAUJOLLE.
Pathologie interne		MOREL.
Bactériologie, hygiène, médecine sociale		ANDRIEU.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		VIRENQUE.
Clinique des maladies des voies urinaires		FABRE (P.).
Matière médicale		VINCENT.
Hydrologie thérapeutique et climatologie		MERIEL (P.).
Anatomie pathologique		FABRE (J.).
Clinique O. R. L. et de chirurgie maxillo-faciale		CALVET.
Clinique ophtalmologique		CALMETTES.
Chimie biologique		VALDIGUIÉ
Médecine légale et Médecine du Travail		PLANQUES.
Histologie et Embryologie		BROUSSY.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Physiologie	BAISSET.
Obstétrique	GUILHEM.
Anatomie	COULOUMA.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Histologie	MM.	BIMES, ch. de f.
Anatomie		LAZORTHES.
Médecine		GADRAT, DARNAUD, GÉRAUD, DARDENNE, LAPORTE.
Chirurgie		RIEUNAU, DIEULAFÉ, DAMBRIN (P.).
Ophtalmologie		DEODATI.
Physique médicale		MARQUÈS.
Pharmacie		COUTURIER.
Chimie générale pharmaceutique		BLANC.
Histoire naturelle et pharmaceutique	Mme	DULUCQ-MATHOU.
Odonto-Stomatologie		CADENAT.

COURS COMPLÉMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes	MM.	GARIPUY.
Cours d'anatomie physiologique et pathologie élémentaire aux élèves sages-femmes		GUILHEM.
Chimie biologique		VALDIGUIÉ (P.).
Chimie pathologique		VALDIGUIÉ (P.).
Chimie minérale		BLANC.
Physique pharmaceutique		AUVERGNAT.
Dermatologie et Syphiligraphie		BAZEX.
Législation pharmaceutique		BOUISSET.
Microbiologie		BOUISSET.
Clinique de la Tuberculose		MOREL, DAMBRIN P.
Parasitologie		LASSERRE.
Botanique et Cryptogamie	Mme	DULUCQ-MATHOU.
Chimie analytique	MM.	BLANC.
Médecine Sociale et du Travail et Assurances Sociales		BOUNHOURE.
Anatomie médico-chirurgicale		THOMAS.
Pharmacodynamie		BOUNHOURE.
Bactérioologie et Hygiène		LAPORTE.
Urologie		LHEZ.
Ophtalmologie		DEODATI.
Neuro-chirurgie		LAZORTHES.
Clinique O. R. L.		CLAUX.
Secrétaire de la Faculté		DUCROS.

La Faculté déclare n'être par responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 mai 1891.)

A MA MERE ET A MON PERE

Je leur dédie cette thèse, très faible gage de ma profonde reconnaissance et de mon infinie tendresse.

A MON MARI ET A NOTRE FILS

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MA GRAND MERE ET A MA MARRAINE

Avec toute mon affection.

A MON PARRAIN

A MON COUSIN

A MES BEAUX PARENTS

A MON BEAU-FRERE ET A MA BELLE-SŒUR

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ANDRIEU

Professeur de Bactériologie, d'Hygiène et de Médecine Sociale.

En remerciement pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de notre thèse, dont il nous a confié le sujet, et pour le précieux enseignement qu'il nous a donné durant nos années d'études.

A NOTRE JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR SOREL

Professeur de Clinique Médicale et de Puériculture.

MONSIEUR LE PROFESSEUR LAPORTE

Professeur Agrégé à la Faculté.

MONSIEUR LE DOCTEUR LASSERRE

Chargé de Cours à la Faculté.

MONSIEUR LE DOCTEUR BAZEX

Chargé de Cours à la Faculté.

Auprès desquels nous avons toujours trouvé le meilleur accueil.

Nous les remercions de l'honneur qu'ils nous font en acceptant de siéger à notre Jury de thèse.

A MADAME LE DOCTEUR ENJALBERT

Qui nous a guidé de ses précieux conseils, témoignage de respectueuse gratitude.

I. — INTRODUCTION

Les méthodes industrielles de traitement de lait ont pour but d'éviter la propagation des maladies transmissibles par celui-ci : c'est là leur raison d'être et leur rôle hygiénique. En outre par leur action sur la flore saprophytique elles permettent d'éviter ou de retarder considérablement les altérations de cet aliment : c'est là leur but économique.

Si pendant longtemps, le but économique a primé le but hygiénique, on peut dire qu'à l'heure actuelle l'évolution de l'industrie, dirigée dans tous les pays par des réglementations de plus en plus précises tend à placer en première ligne l'amélioration de la qualité hygiénique.

Nous étudierons les différentes méthodes industrielles appliquées à l'heure actuelle et les résultats de l'examen bactériologique des laits ainsi obtenus.

Un point de départ s'avère indispensable : l'étude de la flore microbienne du lait cru.

CHAPITRE PREMIER

Flore Microbienne du Lait

Le Congrès National de la Répression des Fraudes a donné du lait la définition suivante : « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de Collostrum. »

Donc, théoriquement, nous ne devrions constater la présence d'aucun germe dans le lait. Il n'en est pas ainsi pratiquement.

Nous allons envisager l'origine des différents microbes contenus dans le lait : deux grandes classes de contamination :

Les contaminations intérieures;

Les contaminations extérieures.

Contaminations intérieures

Il est un fait bien connu que le lait est déjà contaminé dans la mamelle. On ne peut donc, quelles que soient les précautions d'aseptie et de propreté obtenir pratiquement un lait privé de germes.

Origine de ces germes :

Le sang, les affections de la mamelle, les autres affections où la mamelle peut jouer le rôle d'émonctoire (tuberculose, brucellose).

En principe, nous ne devrions pas envisager les microbes pathogènes de contaminations intérieures car la traite des animaux malades est défendue. Mais souvent, les diagnostics de maladies ne sont pas faits à temps.

De plus, la mamelle fonctionnant, il faut ajouter l'infection par voie ascendante; les gouttelettes de lait qui après la traite restent à l'extrémité du trayon sont peuplées de micro-organismes : ceux-ci peuvent remonter dans le canal et se développer dans les mamelles; la voie cutanée est aussi un bon agent de transmission.

Il y a naturellement une défense de l'organisme contre ces agents infectieux. Réaction locale qui réussit à établir un équilibre : des microbes banaux dépourvus de virulence sont détruits, les espèces plus virulentes résistent mais sont atténuées et incapables de produire des troubles pathologiques, ce sont des microcoques, des streptocoques. Si les réactions de la mamelle faiblissent, ils reprennent leur virulence; leur similitude avec les espèces pathogènes s'accentue : ils deviennent pyogènes.

A quel chiffre moyen de micro-organismes arrivons-nous si le lait est considéré comme recueilli aseptiquement ? 100 à 500 micro-organismes par cc.

Contaminations extérieures

Elles sont directement proportionnelles aux conditions d'hygiène qui président à la récolte et au transport du lait.

1° *Variations suivant les conditions de récolte.*

Il faudra considérer tous les facteurs présents au moment de la traite :

Le pis de la vache : si non lavé, 148.000 à 185.000 germes par cc.

Les mains de la personne qui trait : danger des germes pathogènes; importance dans la transmission des épidémies.

La paille, le fumier environnants : Harrisson a dit : « Il tombe 20.000 germes par minute dans le seau à traire, si le fumier est remué et la paille étendue pendant la traite, et il n'en tombe plus que 1.000 dans le même temps si ces opérations ont eu lieu une heure à l'avance ».

D'autre part l'urine fraîche est stérile mais mélangée à la litière constitue une excellent milieu de culture; la fermentation augmente la température et la sélection des espèces thermophiles se fait.

Les bidons qui reçoivent le lait : Il faut compter aussi sur le danger des particules de poussière, la terre contenant plusieurs millions de microbes par gramme, la présence des mouches constante en été.

Il faut encore ajouter les germes pulmonaires ou rhinopharyngés des manipulateurs et ceux possibles apportés par un mouillage frauduleux.

2° *Variations suivant les conditions de transport.*

Deux facteurs principaux :

La durée, la température.

Ces deux facteurs sont intimement liés; nous ne les séparerons pas, l'importance de la durée amène des conséquences plus ou moins graves selon la température. De toutes façons, le transport doit être rapide. Ceci semble logique et la vérification bactériologique en a été faite.

Les usines de fabrication industrielle du lait qui utilisent la production locale sont, par conséquent dans les conditions les plus favorables.

Voyons la justification de la brièveté du transport. Nous savons qu'il existe un pouvoir antimicrobien dit pouvoir bactéricide dans le lait. Ce pouvoir va empêcher l'augmentation du

nombre de bactéries, il va même détruire certaines bactéries.

Deux points sont à considérer :

— Quand ce pouvoir bactéricide est-il le plus actif ?

— Sous quelle température

C'est de 0 à 6 heures après la traite que les analyses nécessaires et nombreuses ont montré une diminution nette du nombre des bactéries. Après six heures, augmentation des éléments bactériens. Donc activité maxima du pouvoir bactéricide entre 0 et 6 heures.

Cette faculté de défense contre l'invasion microbienne s'intensifie aux basses températures. Ce résultat est dû, non pas à ce que la réaction de défense est réellement plus grande aux basses températures mais à ce fait : à sa température optimum aux environs de 37°, le pouvoir bactéricide, si grand soit-il, ne peut résister au développement microbien tellement rapide qu'il masque complètement tous les autres phénomènes. Aux basses températures la force de la réaction de défense est moins diminuée relativement à l'activité de reproduction bactérienne, donc le résultat de la lutte est bien meilleur.

On peut voir d'ailleurs la faiblesse et la faillite de ce pouvoir bactéricide si l'on considère que d'une façon générale, sans précaution spéciale, au bout d'un transport de trois heures, il y a une augmentation de germes de 50 %. De plus, ce pouvoir est totalement détruit à 70-75°.

Nous venons d'avoir une vue d'ensemble sur les différentes sources de pollution laitière, il nous reste à voir quels sont les principaux agents de cette pollution : les germes que l'examen bactériologique nous permettra de mettre en évidence.

Les plus courants sont *les ferments lactiques :* leurs différentes races ont toutes l'aptitude d'acidifier le lait en décomposant la molécule de lactose pour donner de l'acide lactique, de ce fait ils peuvent causer la coagulation du lait. Ces ferments, non sporulés résistent peu à la chaleur et nous ne les retrouvons pas dans nos laits industriels.

A côté d'eux et presque aussi fréquents et nombreux, nous trouvons, *les saprophytes banaux*, citons en particulier le colibacille, germe de souillure banal qui dans certains cas peut être pathogène, nous le retrouverons tout au long de cet exposé.

Citons encore les *germes putrides* et les *anaérobies* qui producteurs de spores résistent aux hautes températures et que nous risquons de retrouver dans les laits pasteurisés.

La présence dans le lait de *germes pathogènes,* bien qu'infiniment plus rares, nécessite, par le danger qu'elle présente, que nous nous y arrêtions. Ce peut être :

— Des germes d'origine mammaire :

Bacille de Koch;
Brucella;
Virus aphteux;
Streptocoque;
Staphylocoque, etc...

— Des germes apportés par une souillure secondaire :

Salmonella;
Bacilles dysentériques;
Bacille de Klebs-Lœffler...

Nos laits industriels ne doivent théoriquement pas en contenir.

Enfin, des germes qui déterminent ce que l'on désigne sous le nom de « *maladies du lait* », c'est-à-dire des altérations de certains de ses constituants chimiques. C'est le cas des levures, de certaines moisissures ou de certains microbes des laits « amers » ou « visqueux » ou « colorés ».

A la fin de ce premier chapitre, nous avons entrevu la quantité et la nature des germes que nous pouvons trouver. Nous sommes obligés de dire encore une fois toute l'importance d'une récolte parfaite pour le résultat bactériologique ultérieur de nos laits industriels.

Dans un deuxième chapitre, nous allons étudier les différentes méthodes en pratique pour apprécier la teneur bactérienne d'un lait.

CHAPITRE II

Contrôle Bactériologique d'un Lait

Nous allons étudier les procédés généraux nous permettant de rechercher l'importance et la nature de la pollution microbienne d'un lait.

On apprécie le nombre des bactéries et on précise leur valeur pathogène, donc deux subdivisions s'imposent à ce chapitre :

Tout d'abord *la numération des bactéries;*

Ensuite l'*identification des bactéries.*

Numération des bactéries

1. *Examen microscopique direct.*

a) *Procédé de Rossi.* — Il coagule 5 cc. de lait avec 2 cc. 5 d'acide acétique glacial et examine le coagulum sous le microscope. A l'aide d'un colorant, on peut faciliter la visibilité des germes.

b) *Procédé de Breed.* — Procédé officiel de contrôle améri-

cain des laits. BREED se sert d'une lame porte-objet sur laquelle est tracée une surface de 1 cm².

Il étale sur cette surface 0 cc. 01 de lait à examiner, puis séche à l'abri de l'air et dégraisse dans du xylol, une minute environ, séche de nouveau la lame, fixe à l'alcool à 90° puis colore avec la solution au bleu de méthylène de Lœffler.

Il ne reste plus qu'à examiner à l'objectif à immersion.

On détermine la surface d'un champ du microscope utilisé. On examine plusieurs champs, on fait la moyenne des germes ainsi comptés. Sachant que la surface d'un champ est contenu X fois dans 1 cm², il est facile de connaître la quantité de germes contenue dans 0 cc. 01 du lait à examiner. Il suffit de multiplier par 100 pour avoir la quantité de germes pour 1 cc.

c) *Procédé de Skar.* — Date de 1911; utilisé depuis à Oslo. Dans cette technique on colore le lait avant l'étalement : à 5 cc. de lait sont ajoutés 0 cc. 18 de bleu de Piana, puis 0 cc. 02 de potasse caustique à 30 %.

1/50 de cc. de ce mélange est étalé sur une surface de 5 cm² délimitée sur une lame porte-objet.

On utilise ensuite un oculaire spécial qui permet de numérer les germes et d'en rapporter le nombre à 1 cc.

d) *Procédé Placidi.* — Utilise des lames spéciales sur lesquelles les surfaces tracées sont divisées en millimètres carrés.

2. *Cultures.*

On a pu utiliser comme milieux de culture des géloses spéciales favorisant particulièrement le développement des ferments lactiques. Ces milieux ne sont pas tellement recommandables, la gélose ordinaire se révélera plus utile dans la pratique courante.

Citons pourtant l'intérêt du milieu de DEMETER : gélose lactosée d'un pH de 6, 8 qui de préparation facile est aussi favorable au développement des germes lactiques, des germes banaux ou des germes pathogènes autre que le bacille de Koch que l'on peut rencontrer dans les laits.

De plus en plus, on tend pourtant à utiliser les milieux de culture à base de lait, GUITTONEAU et CHEVALIER (Le lait, janvier-mars 1941) préconisent un milieu à base de lait écrémé digéré par la papaïne.

La gélose peut être ensemencée puis coulée soit sur de très petites surfaces délimitées sur des lames porte-objet, soit en boîte de Pétri. On peut également ensemencer sur gélose inclinée.

a) *Procédé de la boite de Pétri.* — Classique méthode de culture. Suivant qu'on s'adresse à un lait stérilisé ou pasteurisé ou cru, on fait des dilutions plus ou moins grandes. Le lait stérilisé est ensemencé tel quel. Pour les autres laits, on fait des dilutions variant du 1/100 au 1/1.000 et même plus suivant l'état de souillure présumé.

Il est bon de faire plusieurs ensemencements avec des dilutions différentes.

On porte 1/10e de cc. de la dilution de lait dans la gélose fondue puis refroidie à 47-50°.

On mélange bien.

On coule en boite de Pétri ou mieux en boite de Legroux.

Après solidification on porte la boite de Pétri à l'étuve à 37° (la surface de la gélose se trouvant tournée vers le bas).

On laisse deux ou trois jours à l'étuve.

On compte alors les colonies microbiennes soit à l'œil nu, soit à la loupe, en les pointant à la plume au fur et à mesure.

b) *Procédé des petites cultures sur lames.* — Quand on veut faire des examens en grandes séries, le procédé de culture sur plaques de Pétri nécessite beaucoup de matériel de verrerie et beaucoup de gélose. C'est pourquoi on a été amené, à pratiquer les cultures sur de très petites surfaces dessinées sur lames porte-objet.

Le premier de ces procédés fut mis au point par l'auteur américain FROST, Professeur de bactériologie agricole à l'Université de Wisconsin.

Sur une lame porte-objet sont tracés deux carrés de 2 cm de côté, sur chacun d'eux on met 0 cc. 05 du lait à examiner et une égale quantité de gélose fondue. Le mélange lait-gélose est

facilité car on laisse la lame au-dessus d'un bain marie aux environs de 45°. Ensuite on pose la lame horizontalement à l'abri de l'air, le mélange se solidifie. La préparation est ensuite mise à l'étuve à 37° pendant 10 à 12 heures, puis séchée une ou deux minutes à 90°, plongée dans une solution alcoolique d'acide acétique, colorée au bleu de thionine. On numère les colonies en examinant plusieurs champs microscopiques et en faisant une moyenne.

Clarenburg et Van Oyen de l'Ecole Vétérinaire d'Utrecht ont modifiés cette technique de la façon suivante :

Les lames porte-objet dont ils se servent portent deux rectangles de 2 cm. × 2 cm. 5, donc de 5 cm² de surface.

A l'aide d'une pipette graduée en 20e de cm³, ils portent sur chaque rectangle 0, 05 cc. de lait et 0, 05 cc. de gélose fondue. On peut ensemencer soit avec du lait pur soit avec du lait dilué. Si l'ensemencement est fait au lait pur, chaque millimètre carré du rectangle reçoit 0, 0001 cc. de lait.

La préparation est ensuite mise 24 heures à l'étuve à 27° puis séchée rapidement et colorée par immersion pendant deux minutes dans la solution suivante :

Bleu de thionine.	1 gr.
Phénol cristallisé.	2 gr. 5
Eau distillée.	100 gr.
Acide acétique glacial.	20 gr.

Lavée, séchée et examinée au microscope.

De plus un petit chassis portant des carrés de 1 mm² déposé sur la plaque une fois sèche facilite la lecture.

Placidi dans sa thèse en 1928 à Montpellier combine les deux méthodes de Breed et de Clarenburg.

Ses lames porte-objets sont gravées de deux rectangles de 2 cm. × 2 cm. 5 divisés intérieurement en petits carrés de 1 mm². L'examen est rendu très simple et surtout très rapide, les divisions intérieures apparaissent très nettement sur la coloration, un des rectangles sert à l'examen direct, l'autre à la culture.

c) *Procédé de Burri.* — A ces procédés de cultures sur pla-

que le Professeur Burri (Berne) a opposé les cultures en stries sur gélose inclinée. C'est ici la technique classique d'isolement microbien par épuisement de la semence.

Il propose l'emploi d'une anse de platine exactement calibrée devant contenir 1 milligramme de lait. On obtient le taux bactérien en gramme en multipliant par 1.000 le nombre de colonies que l'on dénombrera.

Cette méthode demande une technique rigoureuse. Elle semble donner de bons résultats surtout pour les laits contenant de quelques milliers à 100.000 germes par centimètre cube.

Quelle que soit la méthode employée, il faut savoir qu'aucune n'est à l'abri des critiques, aucune des techniques de numération bactérienne n'étant parfaite il ne faut pas attribuer aux chiffres qu'elles fournissent une valeur absolue.

Identification des bactéries

Comme nou s l'avons vu dans le précédent chapitre, de nombreuses espèces microbiennes peuvent être rencontrées dans le lait. Ici, ce n'est plus le nombre total de germes qu'il va nous importer de connaître, mais plutôt les espèces nuisibles présentes dans le lait.

Les plus importantes sont les représentants du groupe coliaérogènes et c'est par elles que nous allons commencer.

1. *Colimétrie.*

La numération des colibacilles permet d'apprécier le degré de souillure d'un lait cru, mais elle perd toute sa valeur quand elle concerne un lait pasteurisé, les températures de pasteurisation doivent détruire les germes pathogènes, la destruction des colibacilles servira de test. Nous reviendrons sur ce point lorsque nous étudierons la pasteurisation.

Donnons tout d'abord les principales caractéristiques du colibacille :

C'est un petit batonnet plus ou moins mobile, gram négatif.

Il fait fermenter la lactose, la dulcite avec production de gaz.

Il attaque la gélose au rouge neutre et la fait passer du rouge cerise au rouge serin.

Il donne de l'indol en eau peptonée.

Dans la pratique courante, on ne pousse pas l'analyse jusqu'à l'identification précise du germe par une galerie complète et l'on se contente de rechercher l'un des caractères les plus constant du germe obtenu dans des conditions précises.

Méthode à l'acide phénique. — Les colibacilles produisent donc de l'Indol en eau peptonée, de plus leur culture n'est inhibée ni par la présence d'acide phénique au taux de 1 pour 1.000 ni par une température de 41°5 C. alors que ces deux facteurs réunis entravent fortement le développement des autres germes capables de produire de l'indol. L'indol libéré peut être mis en évidence par le réactif d'Ehrlich-Kovacs avec lequel il donne une coloration rouge ou par la classique réaction de Salkovsky.

Une numération approximative des germes indologènes dans le lait sera effectuée en ensemençant une série de tubes d'eau peptonée phéniquée avec des quantités décroissantes de lait.

Les tubes à réaction positive indiqueront la présence d'au moins un colibacille dans la quantité de lait ensemencée dans ces tubes. On détermine ainsi un taux minimum de colibacille par le tube le moins riche en lait. Le premier tube à réaction négative limite le taux maximum de colibacille possible.

On opère comme suit (Thieulin et Vuillaume, « Eléments d'analyse et d'inspection du lait ») on fait tout d'abord les dilutions du lait à analyser au 1/10e, au 1/100e, au 1/1.000e dans trois tubes contenant chacun 9 cc. d'eau stérile.

Ensuite, on introduira aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile, 1 cm³ de chaque dilution dans trois tubes remplis de 10 cm³ d'eau peptonée phéniquée. Pour les laits pasteurisés on introduira en outre 1 cm³ de lait non dilué dans un ballon de 60 cm³ d'eau peptonée phéniquée.

On place les milieux ensemencés ainsi qu'un tube témoin (eau peptonée phéniquée non ensemencée) à l'étuve à 41° 5 C. pendant 48 heures.

Au bout de ce temps, on introduit 1 à 2 cm³ du réactif d'Ehrlich-Kovacs :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.	5 gr.
Alcool amylique.	75 cc.
Et après dissolution à froid, H.C.L. pur. .	25 cc.

On agite légèrement. Si la réaction est positive, c'est-à-dire s'il y a eu formation d'indol, il se produit en surface un anneau rouge.

Méthode de Zapatero. — Cette méthode permet d'effectuer une numération des colibacilles par culture du lait à des dilutions variables sur milieu spécial au rouge de phénol (qui vire du rouge au jaune en présence de colibacille).

Cette méthode est comparable dans sa forme et dans ses résultats à celle qui vient d'être décrite, à condition d'opérer sur une dilution du lait en milieu de Zapatero supérieure ou égale à 1/70e : en raison de l'action éventuelle de l'acide lactique sur l'indicateur coloré.

Méthode américaine. — Elle utilise les milieux lactosés que le colibacille fermente avec production de gaz.

Le milieu de Dunham-Schœnlein est rendu particulièrement électif par l'addition de bile de bœuf et de vert brillant. Voici brièvement quel est le principe de cette méthode.

En ensemençant une série de tubes de milieu électif avec des quantités décroissantes du lait à analyser et en raisonnant comme il a été dit pour la numération précédente à l'acide phénique, on pourra obtenir approximativement le taux minimum et le taux maximum de colibacille; par exemple :

Si le tube ayant reçu 0, 01 cc. de lait donne une fermentation positive, le lait renfermait au moins 100 germes du groupe pour 1 cc.

Si le tube ayant reçu 0. 001 cc. ne donne pas de fermentation, le lait renfermait moins de 1.000 germes pour 1 cc.

Cette méthode est moins précise que celle à l'acide phénique,

car elle numère en même temps les germes Aérobacter qui possèdent la même propriété que le colibacille en ce qui concerne les milieux lactosés.

On pourra faire une différenciation entre les deux germes par la méthode de Stassano basée sur la propriété que possède l'Aérobacter de fermenter le lactose avec production d'acéthyl-méthyl-carbinol est caractérisé par la formation d'iodoforme en présence d'iode en milieu alcalin.

A côté de la recherche systématique des colibacilles, nous aurons souvent à mettre en évidence d'autres germes dans le lait. Ces recherches nous seront imposées soit par l'intérêt documentaire strict, soit pour éclaircir l'étiologie précise d'une maladie, soit enfin pour vérifier très exactement la valeur hygiénique d'un lait devant servir à l'alimentation délicate des nourrissons.

Identification des autres germes

a) *Bacille tuberculeux :*

Trois moyens de la rechercher s'offrent à nous.

L'examen direct. — Ne peut donner de bons résultats que sur un lait trait aseptiquement, de plus la présence de bacilles acido-alcoolo-résistants que celui-ci peut révéler ne signifie pas forcément présence de bacille de Koch, des bacilles présentant cette caractéristique n'étant pas rares dans le lait : bacille de Pétri, bacille du lait de Mœller, type II du gras bacillus, Mistbacillus ou bacille de fumier.

Inoculation au cobaye. — Deux animaux doivent être inoculés pour chaque lait, ils doivent être mis trois ou quatre mois en observation avant d'être sacrifiés, parfois vingt jours suffisent pour avoir un diagnostic positif.

Cette méthode longue et onéreuse ne peut être utilisée couramment, elle est à faire surtout sur des laits crus d'origine

connue et non sur des laits de grands mélanges; on ne l'effectue qu'exceptionnellement sur les laits industriels.

b) *Brucella :*

Ce qui vient d'être écrit à propos du bacille de Koch peut à peu près se répéter pour la brucella, à savoir : intérêt très relatif en ce qui concerne les laits industriels.

Le lait cru contagieux renferme le germe pathogène. On le recherche :

Par la culture. — Sur milieu habituels, en atmosphère de Co2 ou à l'air dans l'étuve ordinaire. Elle ne doit être considérée comme négative qu'après un séjour de trois semaines à l'étuve.

Par le lacto-diagnostic. — Agglutination avec le sérum du lait. La réaction est pratiquée comme avec le sérum sanguin, ne peut être lue qu'après 18 heures au moins de conservation à la glacière. Le lait qui agglutine à 1 pour 20 et au-dessus renferme des brucella.

Par l'inoculation expérimentale au cobaye. — C'est ici encore le moyen de choix : le séro-diagnostic du cobaye pratiqué trois semaines après l'inoculation et la recherche des brucella dans ses ganglions donnent des résultats probants.

c) *Germes Anaérobies :*

Nous les retrouvons dans les laits traités, car producteurs de spores ils résistent aux hautes températures. Parmi eux, le plus important et le mieux connu des bactériologistes est le bacille perfringens. Pour sa mise en évidence nous utiliserons en même temps deux techniques :

1° Technique dérivée de l'analyse bactériologique de l'eau :

On utilise la gélose courante du laboratoire. Nous la coulons dans des tubes à essai à raison d'environ 20 cc. par tube.

On stérilise ensuite à 110° pendant 15 minutes.

Au moment de l'emploi on porte le tube au bain marie bouillant pendant 20 minutes. On laisse refroidir à 60°. On ajoute 10 à 12 gouttes d'une solution fraîche de sulfite de soude à 10 % et 4 gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 8 %.

A ces 20 cc. de gélose ainsi préparés on ajoute 1 à 2 cc. du lait à analyser préalablement plongé dans un bain marie à 80° pendant 5 minutes.

On centrifuge à la main en évitant autant que possible les bulles et on plonge dans un bac d'eau froide pour accélérer la prise de la gélose.

On porte ensuite à l'étuve à 37°.

On lit 12, 24, 48 heures après.

Sur ce milieu on obtient des colonies noires de 6 à 10 mm. de diamètre.

Pour identifier sûrement le germe on peut faire un repiquage en gélose Veillon.

2° On prépare tout d'abord une série de tubes stériles contenant de la paraffine obtenus en plaçant environ 1 cm^3 de paraffine dans des tubes à essais que l'on stérilise à l'autoclave ou au Poupinel.

On prélève sur chaque échantillon du lait à examiner, agité avec soin, quatre fois 5 cm^3 en utilisant une pipette stérile.

Ces quatre échantillons sont placés toujours aseptiquement dans quatre tubes préparés de la façon précédente. Les tubes sont bouchés à nouveau et chauffés pendant 15 minutes dans un bain marie à au moins 85°. La paraffine fond à nouveau, elle monte sur le lait où elle se refroidira en constituant une fermeture anaérobie au-dessus du lait. Toutes les formes végétatives de bactéries sont tuées de cette façon, seules les spores subsistent.

Les tubes sont ensuite placés trois jours à l'étuve à 37°. Si le lait contenait des anaérobies, au bout de ce laps de temps le bouchon de paraffine se soulève sous l'influence de la pression des gaz.

d) *Germes putrides :*

Ce sont des bactéries qui produisent de l'hydrogène sulfuré aux dépens des albumines.

On les recherche de la façon suivaste :

Le lait est ensemencé sur eau peptonée à 1 %, salée à 0,5 %, non additionnée d'antiseptique.

Avant l'ensemencement, le milieu convesablement stérilisé est réparti en tubes de 10 cm³ et en ballon de 50 cm³.

On ensemence 10 cm³ de lait dans un ballon de 50 cm³, 1 cm³ de lait, 1/10e cm³, 1/100e cm³, 1/1.000e cm³ dans les tubes de 10 cm³.

Use languette de papier filtre imbibée d'une solution d'acétate de plomb est glissée entre le bouchon de coton et le verre de façon à être maintenu au-dessus de la surface du liquide.

On laisse 48 heures à l'étuve à 37°.

Au bout de ce temps, la présence d'hydrogène sulfuré se traduit par un noircissement du papier à l'acétate de plomb.

e) *Streptocoques :*

Cette méthode est absolument dénuée d'intérêt pour les laits de grands mélanges. Nous n'en dirons donc qu'un mot : le streptocoque mastidis détermine chez la vache laitière une mammite aiguë, subaiguë, ou chronique qui produit évidemment une altération du lait. Cette mammite sera accompagnée d'un afflux leucocytaire. On recherchera streptocoques et leucocytes sur le culot de centrifugation d'un échantillon de lait. Comme le dit Bourgeois (*Thèse*, Lyon, 1927), il convient de réserver ces recherches à l'étude du lait à la production, à l'étable, en procédant par bête et encore mieux quartier par quartier de chaque mamelle.

f) *Staphylocoques pathogènes :*

Il a été prouvé récemment qu'il existe certains staphylocoques dont l'absorption digestive provoque chez l'homme de nombreuses toxi-infections.

Un intéressant article de René Buttiaux et Lucie Lesné (Le lait, mars-avril 1947) traite de la présence de ces staphylocoques dans les laits concentrés sucrés, et montre les troubles intestinaux parfois mortels que l'ingestion de ces laits a pro-

voqué chez les nourrissons. Nous allons donc exposer quelle méthode on doit employer pour mettre en évidence ces staphylocoques et comment les différencier des staphylocoques banaux. Buttiaux et Lesné ont employé dans leur expérimentation la technique suivante :

Le milieu de culture utilisé est le « Lactose-Broth » recommandé par la « Standard méthod » américaine pour l'analyse des eaux.

On ensemence les tubes de ce bouillon lactosé avec : 10 cm^3, 1 cm^3, 1/10^e cm^3, 1/100^e cm^3, 1/1.000^e cm^3 du lait.

On porte 48 heures à l'étuve à 37°.

A ce moment on fait un gram sur un tube et un isolement sur gélose glucosée à 1 pour 1.000. Il est préférable de préparer cette gélose avec une peptone spéciale de la Maison Difco dénommée « Tryptose » qui mettra bien en évidence la pigmentation des staphylocoques.

Après 24 heures d'étuve à 37°, les colonies suspectes sont repiquées et identifiées.

De cette manière on obtient tous les staphylocoques qu'ils soient pathogènes ou non.

Chapman modifie cette technique de façon à n'obtenir que les cultures de staphylocoques pathogènes. Il emploie pour cela comme milieu de culture la gélose lactosée au bleu de Bromothymol coulée en boite de Pétri. On ensemence le lait directement. Au bout de 36 heures d'étuve à 37°, on obtient des colonies nettes, jaunâtres, muqueuses de staphylocoques pathogènes. L'écueil de la méthode est que l'on ensemence une si faible quantité de lait que si celui-ci est peu riche en staphylocoques, la culture risque d'être négative.

Il reste à différencier les staphylocoques pathogènes des staphylocoques saprophytes banaux.

Un moyen de diagnostic indiscutable existe : l'inoculation à l'animal. Cette recherche est souvent irréalisable; on a donc essayé de mettre au point quelques tests biochimiques.

Voici quelles sont les caractéristiques du staphylocoque pathogène :

1 Il est généralement pigmenté en jaune doré, certaines variétés blanches font toutefois exception;

2 Il coagule plus ou moins rapidement, mais toujours nettement, le plasma sanguin;

3 Il est hémolytique,

4 Cultivé au deuxième passage, sur gélose au violet de gentiane, après 36 heures d'étuve à 37°, il donne des colonies violettes ou pourpres alors que les staphylocoques saprophytes donnent des colonies blanches.

Stone, de son côté, a montré que les staphylocoques responsables de toxi-infections intestinales possèdent certaines particularités. Ensemencés sur milieu gélosé, gélatiné, riche en extraits de viande, les saprophytes poussent bien en restant 24 heures à 37°. A ce moment, on recouvre la boite de Pétri contenant le milieu cultivé avec une solution saturée de sulfate d'ammoniaque. En moins de 5 minutes, on voit des colonies de staphylocoques pathogènes s'entourer d'une zone claire auréolaire d'autant plus grande que le germe est plus riche en toxines entérotropes. On complète cette recherche par l'étude du pouvoir hémolytique du staphylocoque.

Un staphylocoque hémolytique s'entourant sur milieu de Stone d'une auréole claire peut être considéré comme responsable de toxi-infections intestinales.

Nous pouvons rechercher les divers tests de la façon suivante :

1. — *Pigmentation :* Se recherche par culture sur gélose peptonée, légèrement glucosée.

2. — *Coagulase :* Mise en évidence par la méthode simplifiée de Lominski : une trace de culture est ajoutée à un petit tube contenant 1/2 cm^3 de plasma humain oxalaté, dilué dans cinq fois son volume de sérum physiologique à 8,5 %. On mélange et on met à l'étuve à 37°. On recherche la coagulase une demi heure, une heure, trois heures, six heures et douze heures après; la coagulase est d'autant plus active que la coagulation du plasma se produit plus rapidement.

3. — *L'hémolysine :* Est recherchée par ensemencement sur une boite de Pétri où l'on a coulé de la gélose nutritive addi-

tionnée de sang humain. Après 24 heures d'étuve à 37°, la zone hémolysée autour de la culture est d'autant plus grande que l'hémolysine sécrétée est plus active.

4. — *La fermentation de la mannite :* Est étudiée par un ensemencement sur milieu mannité additionné de rouge de phénol et vu après 24 heures à 36 heures à l'étuve à 37°.

5. — *Le test au cristal violet :* Se fait par culture sur gélose lactosée au violet de gentiane. On ensemence par points séparés une assez grande quantité du staphylocoque isolé. On voit les colonies violettes ou pourpres du staphylocoque pathogène après 36 heures d'étuve à 37°.

Nous nous sommes étendus sur la technique de cette recherche parce que le staphylocoque est l'un des germes les plus fréquemment rencontrés dans les laits traités industriellement.

g) *Salmonella :*

Les salmonella ont une résistance analogue au colibacille, se comportent au point de vue de la température comme ce microbe et ne donnent habituellement pas l'indol. On les rencontre de façon constante dans l'intestin des animaux sains. Le lait peut donc être souillé par eux. On les recherchera de la façon suivante :

Enrichissement sur milieu de culture liquide. — On peut employer soit le milieu de Müller-Kauffmann soit le milieu américain au Sélénite (Sélénit M). On ensemence 10 à 20 cm^3 de lait et on porte 48 heures à l'étuve à 37°. Les salmonella se développent bien alors que la culture des autres microbes est bloquée.

Isolement sur milieu électif. — A partir des milieux de culture enrichis. On emploie soit le milieu gélosé de Wilson Blair au citrate de bismuth ammoniacal, soit la gélose « S.S. » américaine. Une ou deux gouttes des cultures enrichies sont étalées à la surface de ces géloses.

On porte 24 heures à l'étuve à 37°.

Au bout de ce temps, on a, sur « S. S. » des colonies incolores avec un petit point marron au centre; sur milieu de Wilson Blair des colonies noires à halo et reflet métallique.

h) *Recherche des levures torulas :*

On ensemence 10 cm^3, 2 cm^3, 1 cm^3 de lait dilué sur trois tubes d'eau de malt que l'on porte 3 jours à 30°, des colorations sont alors faites.

CHAPITRE III

Nous allons étudier successivement les différents traitements apportés aux laits par l'industrie, traitements uniquement par les agents physiques, l'introduction de substances chimiques (le plus souvent antiseptiques) dan le lait est en effet interdite par la loi en France et dans les autres pays.

Les premières méthodes utilisées sont celles basées sur l'action de la chaleur, ce sont les mieux connues, elles comportent souvent comme complément une réfrigération de lait préalablement chauffé, c'est elles que nous allons tout d'abord étudier.

1° Méthodes utilisant l'action de la chaleur

On sait que la première méthode industrielle de conservation des denrées alimentaires par l'action de la chaleur a été préconisée au début du XIX[e] siècle, par Nicolas Appert.

Appert avait découvert l'action de la chaleur sans connaître les microbes, causes essentielles des altérations. Les découvertes de Pasteur apportèrent la justification des techniques employées par Appert et ses successeurs : c'est en détruisant les germes que l'on arrivait à soustraire les aliments aux causes d'altération.

Pasteur montra que la simple ébullition était incapable d'assurer la destruction totale des microbes. Pour assurer la

stérilisation complète, il faut élever la température du lait à 110° pendant deux minutes, ou prolonger l'action de la chaleur à 100°.

Dès lors différentes études sont faites pour industrialiser ces découvertes : après Nœgeli, Backer, Airy, Soxhlet décrit en 1887 une méthode qui consiste à chauffer au bain marie le lait maintenu en bouteilles pendant un temps prolongé qui peut atteindre une heure. Son procédé est encore employé dans les familles et dans les organisations de puériculture et a reçu le nom de soxhlétisation.

En Allemagne, en 1884 apparaît le premier appareil de pasteurisation industrielle : l'appareil de Thiel, à peu près à la même époque les laiteries danoises inaugurent l'appareil de Fjord à circulation continue, père du pasteurisateur danois moderne.

Parallèlement se développaient de nombreuses techniques qui avaient pour but, soit la destruction totale de la flore du lait (stérilisation), soit au contraire la destruction des espèces dangereuses ou nuisibles tout en évitant les inconvénients d'un chauffage trop intense ou trop prolongé (pasteurisation)

Action de la chaleur sur les microbes.

Les microbes réagissent très activement aux différences de température. Si, à quelques degrés au-dessus de 0, ils sont engourdis et ne reproduisent plus, leur activité biologique se développe en même temps que la température s'élève, passe par un optimum pour une température déterminée qui varie avec les espèces, en moyenne 37°, puis décroit pour cesser complètement aux environs de 50°, certains microbes thermophiles peuvent encore cultiver au-delà de 50°.

Certaines espèces microbiennes donnent des spores, celles-ci sont plus résistantes à la chaleur que les microbes eux-mêmes. Alors que les cellules végétatives sont détruites vers 65° si cette température est suffisamment prolongée il faut 120° en milieu humide pendant un quart d'heure pour tuer les spores.

Toutefois, ces données sont purement théoriques, la nature du milieu et, pour une même espèce microbienne, l'origine et

l'état biologique interviennent pour retarder ou hâter la destruction des microbes et des spores.

En même temps que ces destructions bactériologiques sous l'action du chauffage, le lait normal cru subit des modifications d'ordre physico-chimiques (modification de structure des globules gras, dégagement des gaz dissous, coagulation des albumines, précipitation partielle du calcium, des citrates, etc...) et d'ordre biochimique (destruction de certaines vitamines et des diastases). L'importance de ces modifications dépend à la fois, de la température, du mode et du temps de chauffage.

1) *Etude de la pasteurisation.* — Le lait pasteurisé doit être débarrassé de tout germe pathogène.

Un décret du 26 avril 1939 prévoyait ainsi le contrôle de la pasteurisation :

Article 2. — Après la pasteurisation, le lait devra être immédiatement refroidi à une température inférieure à 13-14° C et maintenu autant que possible à cette température jusqu'à livraison.

Article 3. — Les laits pasteurisés à la consommation humaine seront divisés en deux catégories :

1° Le « lait » ayant subi le traitement de pasteurisation prévu par la loi.

Ce lait devra :

— Etre exempt de germe pathogène;

— Ne pas renfermer plus de 100.000 germes microbiens par centimètre cube.

2° Le « lait pasteurisé certifié ». Ce lait devra jusqu'au moment de la vente au consommateur répondre aux conditions suivantes :

— Absence de germe pathogène;

— Réaction négative dans la recherche des bactéries coliformes (groupe Escherichia et Aerobacter) dans un volume de 1 cc. de lait.

— Teneur en germes microbiens inférieure à 30.000 par cc.

Il devra être livré à la consommation dans des bouteilles

préalablement aseptisées d'une contenance d'un litre au maximum. Jusqu'au moment de la vente au consommateur, les bouteilles contenant du lait pasteurisé certifié devront être maintenues à une température n'excédant pas 12° C.

Les usines s'occupant du traitement du lait surveillent en général la collecte et le transport. A l'arrivée, à l'origine, un triage de lait est effectué : élimination des laits trop acides (l'acidité normale du lait de vache frais et normal est de 15° à 17° Dornic) de ceux qui présentent des odeurs ou des saveurs anormales, des laits malpropres.

Ensuite le lait doit être filtré ou centrifugé, ou mieux filtré et centrifugé (ces deux procédés n'ont aucune action sur la flore bactérienne du lait). Après quoi, le lait sera pasteurisé.

Trois types essentiels de pasteurisation sont utilisés à l'heure actuelle :

— Pasteurisation haute, encore dénommée continue ou danoise ou pasteurisation rapide;

— Pasteurisation basse, méthode encore dénommée discontinue ou américaine ou pasteurisation lente;

— Pasteurisation en couche mince.

1) *Pasteurisation haute.* — Le lait est chauffé, suivant les appareils entre 70 et 95° pendant 2 à 5 minutes.

Le chauffage a lieu en général dans une cuve à double paroi: entre les deux parois circule de la vapeur et le lait est appliqué par un agitateur contre la paroi chauffante.

Ce procédé est le plus ancien, il a été l'objet de nombreuses critiques, mais il s'avère, que convenablement appliqué et étroitement surveillé, il donne des résultats satisfaisants.

2) *Pasteurisation basse.* — Ici le lait est chauffé pendant trente minutes à une température de 63-65° C.

Ce chauffage peut se faire dans un bac unique, ou dans plusieurs bacs qui se remplissent et se vident tour à tour, ou encore on peut mettre d'abord le lait en bouteilles avant de la chauffer.

Il semble que la pasteurisation basse puisse donner à l'hygié-

niste toute garantie à condition d'une surveillance rigoureuse des appareils.

3) *Pasteurisation en couche mince.* — Les procédés de ce type ont tous pour principe d'amener le lait au contacte de la paroi chauffante en couche extrêmement mince, d'une épaisseur variant de 1 mm. à 1 cm. 5 suivant les types d'appareils.

Ces procédés permettent le traitement du lait à l'abri de l'air, ce qui présente des avantages tant hygiéniques qu'économiques.

La couche mince est toujours continue. Les appareils sont constitués soit par des tubes, soit par des plaques disposées horizontalement ou verticalement, le chauffage atteint 75 à 85° pendant 15 à 30 secondes.

Dans le procédé de Stassano, le lait est chauffé 14 à 15 secondes à 75°, il circule en couche de 1 mm. 5 d'épaisseur.

L'appareil de Todt chauffe en couche mince le lait sur les deux faces.

Après avoir subi ce chauffage, le lait doit être refroidi le plus rapidement possible à + 4, + 8°. Cette réfrigération ne doit pas être passive, c'est-à-dire qu'on ne peut compter sur les échanges de chaleur qui se produiraient naturellement entre le lait pasteurisé et l'air ambiant. Ces échanges seraient d'une durée beaucoup trop considérable et le lait se trouverait maintenu pendant un temps trop long aux températures de + 40° éminemment favorables au développement des germes qu'il contient encore, la pasteurisation n'étant pas une stérilisation.

Il faut donc refroidir activement le lai pasteurisé en le soumettant à une réfrigération artificielle. Le premier temps de cette réfrigération est constitué par le passage au travers de l'échangeur de température, il est ainsi ramené vers 35-40°. Il est ensuite traité dans les réfrigérants. Ceux-ci appartiennent à de nombreux types : réfrigérants capillaires, tubes parallèles dans lesquels circule de l'eau fraîche ou de la saumure refroidie. Ceci se fait au contact de l'air et peut ainsi être une source de souillure par les poussières, etc...

Aussi, de plus en plus, tend-on à réfrigérer à l'abri de l'air dans des appareils réfrigérants qui rappellent un peu la disposition des pasteurisateurs.

Pour être livré à la consommation, le lait doit être condi-

tionné, soit en wagon-citerne, soit en bidon, soit en bouteilles. La mise en bouteilles stérilisées au préalable et encapsulées après remplissage est certainement le procédé le plus recommandable.

Quoi qu'il en soit, le lait doit être *maintenu au froid* (+ 4°) *jusqu'au moment où il sera consommé.*

Contrôle bactériologique des laits pasteurisés.

Deux groupes de bactéries en dehors des spores survivent à la pasteurisation :

Les types thermophiles;

Les types termoduriques.

Elles n'ont pas d'importance au point de vue hygiénique, mais elles sont indésirables dans le lait pour deux raisons :

D'abord parce qu'elles peuvent produire la destruction des produits imparfaitement pasteurisés, ensuite parce que leur présence en grand nombre produit des numérations élevées dans les produits pasteurisés.

Les bactéries thermorésistantes ou thermoduriques sont celles qui ne sont pas détruites par la pasteurisation de 61° 1 à 62° 7 pendant 30 minutes ou à 71° 1 à 73° 9 pendant 15 à 30 secondes. Les bactéries thermophiles sont celles qui se développent rapidement au-dessus de 45° (thermophiles véritables) et celles qui peuvent se développer à des températures inférieures (thermophiles facultatives).

La pasteurisation haute et rapide semble la meilleure : les températures utilisées étant trop élevées pour la plupart des bactéries thermophiles.

Le meilleur moyen d'éliminer des bactéries est une hygiène convenable à la ferme, à l'usine : entretien soigneux de la vache, de son étable, hygiène de la traite, nettoyage soigneux des filtres. des seaux, des pots de transport, refroidissement complet du lait cru, nettoyage très correct des pasteurisateurs, des réfrigérateurs, refroidissement du lait au-dessous de + 10° C et maintient à cette température.

Les usines pasteurisatrices de la région toulousaine sont contrôlées régulièrement par le laboratoire départemental d'hygiène et l'institut de bactériologie et hygiène. Nous allons donner quelques-uns des résultats obtenus entre février 1946 et février 1948.

Pour chaque lait, deux examens ont été pratiqués, un avant l'entrée du lait dans le pasteurisateur, l'autre au moment du conditionnement.

Chaque examen comporte :

— Une colimétrie;

— Une numération des germes totaux.

— Et enfin une mesure de l'acidité exprimée en degré Dornic.

Les résultats que nous avons obtenus nous donnent 30 % de très bons laits pasteurisés ne contenant pas de colibacille et moins de 30.000 germes par centimètre cube.

Pour les 70 % qui restent et qui contiennent après la pasteurisation un certain nombre de colibacilles et parfois un nombre impressionnant de germes, il a été fait dans tous les cas une recherche très sérieuse de la source de contamination.

Une des causes les plus fréquemment rencontré de l'inefficacité de cette pasteurisation est une défaillance de l'appareil qui peut donner un degré de chauffage insuffisant ou trop peu longtemps maintenu. Le contrôle du chauffage sera effectué rapidement par des épreuves biochimiques nombreuses :

Recherche de la catalase;
Recherche de la réductase;
Réaction de Dupouy;
Réaction de Shern-Gorli;
Recherche de la phosphatase (Kay et Graham);
Etc., etc...

Généralement une de ces épreuves est faite systématiquement à l'usine même.

FOURNISSEUR	LAIT CRU AVANT PASTEURISATION			LAIT PASTEURISÉ		
	Nombre de Colibacilles par litre	Nombre de Germes par CC	Acidité en degré Dornic	Nombre de Colibacilles par litre	Nombre de Germes par CC	Acidité en degré Dornic
U.L...	10.000	540.000	18	0	1.000	16
Cast...	10.000	100.000	27	0	1.000	22
L.T ...	100.000	700.000	25	0	2.000	18
U.L...	1.000.000	Innombrables	21	0	2.000	19
Bat....	1.000.000	90.000	25	0	500	24
Cast...	10.000.000	800.000	30	0	8.000	24
Bat....	1.000.000	10.000.800	24	1.000	2.000	23
L.T ...	10.000 000	500.000	27	0	2.000	23
C.P ...	10.000.000	1.000.000	31	0	5.000	21
Ver....	10.000.000	175.000	24	1.500.000	150.000	24
L.T ...	1.000.000	220.000	24	0	15.000	23
L.T ...	10.000.000	100.000.000	33	10.000	10.000	29
U.L...	10.000.000	10.000.000	35	2.000	4.000	28
Bat....	10.000.000	1.000.000	45	0	15.000	25
Cast...	10.000.000	800.000	32	50.000	50.000	20
Ver....	10.000.000	10.000.000	60	10.000.000	64.000.000	25
Dup...	10.000.000	20.000.000	68	100.000	200.000	23
C.P ...	10.000.000	300.000	40	0	3.000	22
Ver....	10.000.000	5.000.000	30	10.000	300.000	23
La.....	10.000.000	25.000 000	40	0	1.000	23
Ded ...	1.000.000	50.000.000	22	0	100.000	20
L.T. ..	100.000	100.000	21	1.000.000	50.090	21
U.L...	100.000	4.000.000	20	0	1.000	21
L.T ...	100.000	3.000.000	23	0	1.000	22
L.T ...	0	3.000.000	23	0	9.500	22

FOURNISSEUR	LAIT CRU AVANT PASTEURISATION			LAIT PASTEURISÉ		
	Nombre de Colibacilles par litre	Nombre de Germes par CC	Acidité en degré Dornic	Nombre de Colibacilles par CC	Nombre de Germes par CC	Acidité en degré Dornic
U.L...	2.000	60.000	19	0	1.000	18
L.T...	1.000.000	5.000.000	20	0	1.500	19
U.L...	1.000.000	3.250.000	18	0	0	16
L.T...	1.000.000	3.000.000	24	0	Nappe d'anthracomorphes	23
C.P...	1.000.000	260.000	28	0	3.000	22
L.T...	100.000	55.000	38	0	3.000	19
U.L...	10.000	280.000	28	1.000	60.000	23
C.P...	+1.000.000	3.000	34	0	1.000	35
Da	+1.000.000	+5.000.000	42	1000.000	100.000	26
U.L...	1.000.000	540.000	35	1.000.000	72.000	30
L.T...	1.000.000	1.000.000	31	420 000	1.000.000	22
L.T...	1.000.000	200.000	35	10 000	96.000	30
U.L...	1.000.000	50.000	45	1.000	Innombrable	30
U.L...	1.000.000	4.500.000	39	0	6.000	26
L.T...	1.000.000	860.000	32	0	7.000	25
U.L...	1.000.000	820.000	42	0	1.000	36
L.T...	1.000.000	300.000	46	2.000	1.000	24
U.L...	1.000.000	1.000.000	38	2.500	50.000	27
L.T...	1.000 000	30.000	39	1.0000	1.000	26
U.L...	1.000.000	2.000.000	30	10.000	1.500	25
G.L.M.	1.000.000	10.000.000	39	10.000	10 000	33
L.Jo...	10.000	2.400.000	11	0	3.000	11
L.T...	1.000.000	100 000	16	0	Nappe d'anthracomorphes	13
U.L...	1.000.000	180 000	18	0		15

Bien d'autres facteurs peuvent intervenir dans l'étiologie de ces souillures : mélange de lait pasteurisé avec un peu de lait cru à travers l'échangeur de température, entretien défectueux d'une des différentes parties de l'appareil, etc... Ces faits expliquent les différences de qualité qui peuvent exister d'un jour à l'autre pour une même usine.

Il n'est nul besoin à ce sujet d'insister sur l'importance trop évidente de l'éducation du personnel laitier, souvent une faute très légère en apparence aura les plus graves répercussions et aménera la contamination de plusieurs centaines de litres de lait.

Parfois, il suffit d'un examen rapide et grossier pour trouver la pierre d'achoppement du système, quelquefois au contraire, un contrôle des plus sévères est nécessaire. Citons un exemple précis : un lait contenant au moment du conditionnement 200.000 colibacilles par litre et 25.000 germes par cm^3; la température de pasteurisation étant correcte, on pratiqua un prélèvement au niveau des plaques chaudes du pasteurisateur, l'examen donna les résultats suivants : 0 colibacille par litre, 3.000 germes par cm^3. Une vérification de l'appareil montra qu'un robinet de vidange des plaques froides mal nettoyé contenait les germes et contaminait ainsi le lait.

Il va sans dire que pour toute mauvaise pasteurisation contrôlée par le laboratoire, un avertissement sévère est formulé, en cas de persistance des mauvais résultats, la Centrale peut être interdite plus ou moins longtemps.

On est en droit d'exiger qu'un lait ne réponde pas faussement à l'étiquette de « pasteurisé », car toute déficience peut avoir les plus graves conséquences notamment dans l'alimentation des nourrissons.

2° Etude de la stérilisation

Dans un lait stérilisé, la totalité de la flore bactérienne doit être détruite.

Pour obtenir ce résultat, on peut :

— Soit chauffer le laitt 10 à 20 minutes à une température de + 110°-+ 120°.

— Soit utiliser quelques secondes une température de + 130°.

— Soit avoir recours à la Tyndallisation; c'est-à-dire chauffer le lait à 110°, à trois ou quatre reprises séparées de vingt-quatre heures. La première chauffe détruit les formes bactériennes en respectant les spores.

Les autres chauffes détruisent les spores, qu'elles se soient ou non transformées en formes bactériennes.

Le lait stérilisé se comporte comme une véritable conserve alimentaire, il peut être stocké à peu près indéfiniment en flacons ou en boites stériles hermétiquement closes.

Mais pour former un composé stable, c'est-à-dire pour que les globules gras ne remontent pas à la surface sous forme de crème, il faut homogénéiser le lait avant la stérilisation. L'homogénéisation agit en fragmentant au maximum les globules gras qui finissent par être réduits en particules d'un diamètre difficile à apprécier, douées d'un mouvement brownien.

Malgré cela le plus souvent partout où l'on recherche un lait stérile en flacon ou en biberon devant être consommé rapidement (Institut de Puériculture) l'homogénéisation n'est pas pratiquée.

Contrôle bactériologique d'un lait stérilisé. — Ici aucun germe vivant ne doit subsister, ou aura recours à l'étuvage; c'est-à-dire que les flacons ou boites prélevées et intacts seront placés pendant une semaine dans une étuve à 37°.

Au bout de ce temps, si aucune modification signant grossièrement la souillure ne s'est produite, on fait un prélèvement de façon absolument aseptique. Si le lait contenait des germes anaérobies ceux-ci auront le temps de se développer.

On bouche ensuite les ouvertures stériles des flacons avec un coton stérile peu serré et on remet les flacons à l'étuve pour une autre semaine, cette dernière opération aura pour but de déceler les germes aérobies qui privés d'oxygène pendant la première semaine n'auraient pu se développer. Un nouveau prélèvement nous renseignera.

2° Méthode utilisant l'action de l'électricité ou des radiations

Nous ne donnerons qu'une brève description de ces méthodes car leur emploi n'est pas encore généralisé.

a) *Pasteurisation électrique.* — Ce procédé est en réalité un procédé thermique dans lequel la source de chaleur utilisée pour le chauffage du laitt est un courant électrique. Le lait offre une résistance au courant électrique, s'échauffe par effet Joule. On utilise un courant alternatif afin d'éviter les effets de l'électrolyse. La température du lait s'élève de 49° à 72° pendant environ 16 secondes. On refroidit ensuite comme d'habitude. Les résultats obtenus sont très encourageants au point de vue bactériologique. Il semble qu'en dehors de l'action colorifique le courant électrique exerce une action spécifique sur la destruction des bactéries.

b) *Actinisation du lait.* — On entend par là traitement du lait par les radiations ultra-violettes. Ces radiations de longueur d'onde inférieure à 2.800 unités Angströms ont un grand pouvoir bactéricide.

Stoutz a mis au point une irradiation de lait en couche mince dans des tubes capillaires en quartz qui aurait de grands avantages. Cette méthode est encore au stade de l'expérimentation scientifique. Le lait ainsi traité présente un enrichissement en Vitamine D qui peut ne pas être sans danger.

c) *Emploi des ondes courtes.* — Ce procédé préconisé par Seidel utilise l'action stérilisante des ondes courtes d'une longueur d'ondes de 3 mètres environ. Le lait circule pendant un temps très court (3 secondes à 1 minute) dans une atmosphère raréfiée où il est soumis à l'action des ondes. La destruction des bactéries serait ainsi assurée et le lait conserverait ses caractères de lait cru.

3° Stérilisation par l'ozone

L'air ozonisé est un oxydant puissant doué de fortes propriétés bactéricides qui ont été utilisées à la stérilisation des

eaux. L'application au lait de cette méthode a donné de mauvais résultats.

Comme il s'agit en réalité d'une aseptisation par action chimique, il est probable que son emploi contrevient aux dispositions de la législation française sur l'utilisation des antiseptiques.

4° Conserves de lait

a) *Lait condensé non sucré.* — Le grand problème que posa la fabrication de lait condensé non sucré fut l'obtention du composé physiquement stable. Après de nombreux essais, l'homogénéisation inventée par Gaulin permit véritablement d'industrialiser la fabrication de ce lait.

On procède à l'heure actuelle de la façon suivante. Contrôle soigneux de l'acidité pour éviter la coagulation de la caséine. Concentration par ébullition dans le vide à 45° C (la chaleur est fournie par des serpentins de cuivre parcourus par de la vapeur) puis homogénéisation. Le lait est chassé par une pompe à travers une filière constituée par des tubes de très petits diamètres, les globules gras liquéfiés se subdivisent en gouttelettes très fines. Ensuite mise en boite et stérilisation par une température entre 93° et 115° dans un autoclave.

Le lait condensé non sucré est un lait présenté comme exempt de tout germe vivant soit aérobie, soit anaérobie.

L'examen bactériologique se résume à un test de stérilité. Il se fera comme celui des laits stérilisés en employant la méthode de l' « étuvage ». Il arrive qu'au bout de 24 heures d'étuve, un bombage de la boite signe le développement de germes. Si la boite est intacte au bout de huit jours on fera un prélèvement aseptique, un examen direct du lait et si on le juge nécessaire, une recherche de tous les germes précédemment cités.

Le degré de l'acidité du lait est également important à connaître et au-dessus de 20° Dornic le lait doit être considéré comme mauvais.

Les recherches pratiquées au laboratoire sur de nombreuses

marques de lait concentré nous ont toujours montré des laits qui à l'examen direct et à la culture après huit jours d'étuve étaient exempt de tout germe.

b) *Lait condensé sucré.* — Le lait concentré sucré fut obtenu par plusieurs chercheurs en France et en Angleterre, mais c'est en Amérique Borden qui réussit le premier à créer une véritable industrie (brevet obtenu en 1856).

La première usine européenne fut édifiée en Suisse, à Cham.

La fabrication du lait condensé sucré subit divers temps :

— Pasteurisation basse vers 60° dans des appareils tubulaires permettant un chauffage modéré.

— Concentration par ébullition dans le vide, après addition de sirop de sucre. Mélange fait dans une vaste chaudière appelée Vacuum où règne le vide. Violente ébullition sans que la température dépasse 50 à 55°. L'eau s'évapore, le mélange s'épaissit.

— Refroidissement dans des appareils spéciaux où le lait est brassé plusieurs heures afin de provoquer la cristallisation du lactose en cristaux suffisamment petits.

Le lait condensé sucré va directement dans des machines à remplir où s'effectue automatiquement la mise en boite, le sertissage du couvercle, l'étiquetage et l'emballage mécaniques.

C'est un lait simplement pasteurisé et concentré à une température peu élevée. Il conserve en partie ses bactéries originelles. Lait non aseptique, quand il est reconstitué et abandonné à lui-même, il s'altère rapidement.

Des examens systématiques pratiqués au laboratoire sur des laits condensés sucrés destinés à l'alimentation des nourrissons ont montré une absence constante de colibacille et généralement peu de germes. On considère comme bons des laits contenant moins de 3.000 germes par centimètre cube de lait dilué et ayant une acidité inférieure à 20°.

Les résultats portant sur 50 boites de lait nous permettent de juger d'après les numérations obtenues de la qualité du produit :

Marque A. — 3 boite s examinées ont donné trois numérations très faibles,

Examen bactériologique de Lait Concentré Sucré = dilution { 2/3 eau / 1/3 lait

MARQUES	ACIDITÉ	NOMBRE DE COLIBACILLES PAR LITRE	NOMBE DE GERMES PAR CC	MARQUES	ACIDITÉ	NOMBRE DE COLIBACILLES PAR LITRE	NOMBRE DE GERMES PAR CC
A	17	0	0	D	18	0	600
B	23		100		17		200
	20		400		18		300
	20		0		17		700
C	18		11.000		18		1.600
	19		2.400		17		1.300
	18		160.000		16		13.000
D	21		600		19		100
	21		1.100		25		500
	21		100		15		500
A	17		0		15		340.000
	17		100		20		400
D	16		300		19		2.100
	19		1.400		20		500
B	20		100		19		0
	22		100		20		2.000
	18		200		21		0
	18		200		20		200
	21		200		20		200
	23		200		19		1.300
	24		100		29		400
	22		200		20		1.100
D	15		200		17		27.000
	15		0		17		200
	16		700		18		300
	17		400	C	41		5.000
				C	28		6.060

Nous pouvons donc considérer ces échantillons comme de très bonne qualité.

Marque B. — Nous donne également un très bon lait puisque sur 10 boites analysées nous n'avons pas trouvé une seule défaillance de qualité.

Marque C. — Par contre il semble s'agir ici d'un lait de mauvaise qualité, impropre à la consommation du nourrisson puisque 4 boites sur 5 donnent des numérations trop élevées.

Marque D. — A fourni la majorité de nos examens. Sur 34 boites examinées nous trouvons :

— 24 boites de très bonne qualité puisque moins de 1.000 germes par cc.

— 7 boites de bonne qualité. Moins de 3.000 germes par cc.

— 2 boites de qualité douteuse. 13.000 et 27.000 germes par cc.

— 1 boite de mauvaise qualité avec 340.000 germes par cc.

Nous pouvons conclure à un bon lait en raison de la moyenne favorable.

Nos résultats n'ont d'ailleurs pas une valeur absolue car la colimétrie et la numération des germes totaux sont insuffisants pour avoir une idée très précise de la qualité d'un lait concentré sucré. Une recherche de germes putrides, anaérobies et des staphylocoques pathogènes serait à ce point de vue très utile.

Quelles sont les sources de contamination ?

Pour une large part intervient la souillure originelle du lait cru; l'effet inhibiteur du saccharose est plus difficile sur un lait sale fortement souillé.

Un défaut de fabrication n'est pas rare : usines mal tenues, pasteurisation imparfaite, mise en boite défectueuse, etc...

De plus un point nécessite que nous y insistions :

Si un lait concentré bien préparé à partir de lait bien et proprement recueilli a une durée de conservation très longue, un lait sale devient de qualité de plus en plus mauvaise au fur et à mesure que son stockage se prolonge.

Ces dernières années, des laits concentrés sucrés ont été

responsables de troubles très graves et parfois mortels chez des nourrissons. Il est donc indispensable d'éliminer tout lait concentré sucré de qualité bactériologique douteuse de l'alimentation des tout petits.

c) *Laits en poudre.* — Appert et Maloec sont au début de la préparation du lait sec. Le point délicat était de rendre la dissolution en poudre rapide, ce qui ne peut être obtenu que si l'évaporation est elle-même très rapide et ne se fait pas sous une température trop considérable.

Deux procédés sont aujourd'hui utilisés :

1) *La dessication du lait sur cylindres chauffés* (procédé Just Hatmaker). — On fait passer une couche de lait mince à la surface d'un cylindre qui tourne, chauffé à une température de 130 à 140°, un couteau disposé parallèlement à la génératrice détache la couche de lait après dessication, le tout en quelques secondes. On peut procéder dans le vide, à une température de 38-40°.

2) *La dessication du lait pulvérisé sous forme de brouillard* (procédé Krause). — Dans lequel le lait est amené sous forme de brouillard dans une atmosphère raréfiée d'air à une température ne dépassant pas 70° environ.

Dans les deux procédés le lait sec est versé dans des boites soudées. Sauf dans le cas où l'évaporation a lieu à l'air libre, ces températures sont insuffisantes pour détruire la flore pathogène.

Pour obtenir un lait en poudre satisfaisant il faut pratiquer un contrôle soigneux des laits crus et n'utiliser que ceux dont la qualité bactériologique est très bonne.

En pratique le lait en poudre peut se conserver sans altération pendant quelques mois. On ne doit le reconstituer que peu de temps avant son utilisation.

L'analyse bactériologique comportera :

— La numération microbienne;

— La recherche des moisissures et éventuellement la recherche des germes pathogènes sur le lait reconstitué.

CONCLUSION

En présence du lait, milieu de culture idéal pour de très nombreux germes, on comprend la nécessité de mettre en œuvre des méthodes bactériologiques précises pour déterminer et numérer les agents microbiens. Ces méthodes doivent être généralisées pour le contrôle des ateliers de pasteurisation.

Pendant deux ans nous avons étudié le fonctionnement des centrales de pasteurisation de la région toulousaine et les examens bactériologiques périodiques associés aux examens biochimiques nous ont permis de déceler quelquefois :

Soit une pasteurisation mal conduite;

Soit une réinfection du lait au conditionnement.

L'analyse fréquente de laits concentrés sucrés nous a révélé dans une proportion de 14 % une qualité douteuse. C'est là un pourcentage considérable de lait d'une qualité impropre à la consommation, surtout pour les nourrissons.

Le fonctionnement des centrales laitières pour être satisfaisant demande un contrôle de tous les instants, car la moindre faute d'hygiène peut déterminer une souillure de cet aliment éminemment fragile.

Le Président,
ANDRIEU.

VU : *Le Doyen,*
CALVET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 31 mai 1948,
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

BEJAMES (M.). — La vie microbienne dans le lait (Thèse p. 2) (*Journal Médical Français*, décembre 1932, p. 19-23).

BLANC (Y. R.). — Recherches sur la flore bactérienne des laits de conserve (Thèse p. 1) (*Thèse Doct. Médecine*, Marseille, 1940).

BUTTIAUX (R.) et LESNÉ (L.). — Analyse bactériologique des laits concentrés sucrés. Présence de staphylocoques pathogènes dans certains d'entre eux (Thèse p. 9) (*Le Lait*, mars-avril 1947).

CASERIO (E.). — Observations et recherches sur les variations de la charge bactérienne du lait en rapport avec quelques facteurs qui jouent un rôle dans la pratique (Thèse p. 2) (*Annales d'Hygiène*, août 1937).

CLARENBURG (A) et Van OYEN (C. F.). — Recherches systématiques sur la méthode de Frost des petites cultures sur lames pour le dénombrement des bactéries vivant dans le lait (Thèse p. 6) (*Le Lait*, 1927, p. 321).

CRABTREE et LITTERER. — Epidémie d'empoisonnement par le lait due à un staphylocoque producteur de toxine trouvé dans les mamelles de deux vaches (*Américain Journal of Public Health*, 1934, tome XXIV).

DEMETER (K. J.). — Directives pour l'exécution du contrôle bactériologique du lait (*Le Lait*, février 1936).

DEMIER (A.). — La stérilisation par ionisation (Thèse p. 10) (*Rev. Pathol.*, comp. juin 1937).

DEMONT (P.) et DORNER (W). — Recherche sur le procédé Buni de numération bactérienne par stries (*Le Lait*, novembre 1931) (Thèse p. 7).

DETRIEUX. — Les présentations industrielles du lait (*Journal Médical Français*, décembre 1932).

FOURNIER. — Observations du lait en fonction du temps, de la température et des souillures (*Mouv. Sanitaire*, mars 1938).

GUITTONEAU M. G.), MOCQUOT (M. G.) et EYRARD (M). — Contrôle de la flore bactériologique du lait pendant la récolte, la pasteurisation, le transport et la vente.

KUFFERATH. — Contrôle bactériologique et hygiénique des laits (*Annales Institut Pasteur*, p. 462, 1919).

LASSABLIÈRE (P.). — Histoire de la conservation du lait (Thèse p. 11).

Mc CLÉMONT. — Evolution of Bactériological Standards for Milk in England (*British Medical Bulletin*, vol. 5, n°s 2-3, 1947).

NICHOLS. — Etude bactériologique sur la poudre de lait obtenue par pulvérisation (*Journal Dairy Research*, tome X, n° 2, 1939). (Thèse p. 22).

NEUOT (A.). — Les méthodes hygiéniques de contrôle du lait (*Thèse de Paris*, 1930, p. 23-30) (Thèse p. 3).

PLACIDI (L.). — L'approvisionnement en lait et le contrôle hygiénique du lait à Marseille (*Thèse Montpellier*, 1928) (Thèse p. 4).

ROCHAIX et TAPERNOUX. — Le lait et ses dérivés, pp. 180-234.

ROWLANDS (A.). — Bacteriological Control of Milk (*Bristish Medical Bulletin*, vol. 5, n°s2-3, 1947).

THIEULTIN (G.) et VUILLAUME (R.). — Eléments pratiques d'Analyse et d'Inspection du lait, pp.115-121.

VIELLY. — Actinisation du lait (*Rev. Pathol. Comp.* juin 1937).

VIOLLE. — Les microbes et le lait (*Le Lait*, 1921, n°3)

ZAPATERO (E.). — Le contrôle hygiénique du lait. Une méthode pratique et simple de Colimatrie. (*Le Lait*, 1936, n° 157).

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 11

CHAPITRE I. — Flore Microbienne du Lait 13

Contaminations intérieures.

Contaminations extérieures.

CHAPITRE II. — Contrôle bactériologique d'un lait 18

Numération des bactéries.

Identification des bactéries.

CHAPITRE III. — Différentes méthodes industrielles.

1) *Méthodes utilisant l'action de la Chaleur* 33

Pasteurisation 35

Stérilisation 42

2) *Méthodes utilisant l'action de l'Electricité ou des Radiations* 44

3) *Stérilisation par l'Ozone* 44

4) *Conserves de Lait*

Lait Condensé 45

Lait Concentré Sucré 46

Lait en Poudre 49

Conclusion 51

Bibliographie 53

Imprimerie P.JULIA, 2, rue Temponières - Toulouse.